



Title	園芸作物のやく培養に関する研究：（第5報）アスパラガスのやく由来カルスからの茎葉分化
Author(s)	稲垣, 昇; 原田, 隆; 八鍬, 利郎
Citation	北海道大学農学部邦文紀要, 12(4), 293-301
Issue Date	1981-06-30
Doc URL	<a href="http://hdl.handle.net/2115/11960">http://hdl.handle.net/2115/11960</a>
Type	bulletin (article)
File Information	12(4)_p293-301.pdf



[Instructions for use](#)

# 園芸作物のやく培養に関する研究

(第5報) アスパラガスのやく由来カルスからの茎葉分化

稲垣 昇・原田 隆・八鍬利郎

(北海道大学農学部果樹蔬菜園芸学教室)

(昭和55年11月1日受理)

## Studies on the Anther Culture of Horticultural Crops

### (V) Shoot formation from anther-derived callus of *Asparagus officinalis* L.

Noboru INAGAKI, Takashi HARADA  
and Toshiro YAKUWA

(Department of Horticulture, Faculty of Agriculture,  
Hokkaido University, Sapporo, JAPAN)

#### 緒 言

前報(9)において、アスパラガスのやく由来カルスからの器官分化に及ぼす生長調節物質(オーキシン、サイトカイニン及びジベレリン)の影響について検討した結果、分化に好適な生長調節物質の種類及び濃度範囲が茎葉と根で異なることを報告した。従って、同一カルス上で茎葉及び根を同時に分化させ、植物体を高率に育成することは困難であった。このため、やく由来カルスから植物体を育成するには、まず茎葉を分化させ、その茎頂培養や節部切片の培養などによって発根させる方法がよいと考えられる。

本報では、カルスから茎葉を分化させるために好適な培養条件を確立するため、糖類及びpHの影響、カルスからの茎葉分化における品種間差異、移植前のカルスの性状と移植後の茎葉分化との関係などについて検討した結果を報告する。

#### 実験材料及び方法

実験は下記の6項目について行なった。基本培地は前報と同様、Murashige・Skoogの培地を用い、糖は実験IVを除きグルコースを20g/l添加し、pHは実験Vを除き1N HCl及び1N NaOHを用いて5.5に調整した。また、培養はすべて25~27°C、4,000 lx、16時間照明8時間暗黒下で行なった。

#### 実験I: 移植カルスからの茎葉分化に及ぼす分割前のカルスの大きさの影響

‘MW 500’の一核期のやくをBA 1.0 mg/l, NAA 3.0 mg/lを添加した培地上で3カ月間培養し、形成されたカルスを大きさによって4段階(カルス生長指数にして1.5: コメ粒大, 2: アズキ粒大, 3: ダイズ粒大, 4: ダイズ粒の2倍)に類別し、これらのカルスをコメ粒大の1/2に分割してBA 1.0 mg/l, NAA 0.5 mg/lを添加したM・S培地に移植して、茎葉分化と分割移植前のカルスの大きさとの関係を調べた。

#### 実験II: 移植前カルスの性状と茎葉の分化

‘瑞洋’の一核期のやくをBA 1.0 mg/l, NAA 3.0 mg/lを添加したM・S培地に置床し、明所(4,000 lx, 16時間照明8時間暗黒下)及び暗所で12週間培養した。得られたカルスを指数1.5の大きさに分割してBA 1.0 mg/l, NAA 0.5 mg/lを添加したM・S培地上に移植し、4,000 lx, 16時間照明8時間暗黒下で培養して移植前カルスの性状と茎葉の分化との関係を調べた。

#### 実験III: カルスからの茎葉分化についての品種間比較

‘MW 500’, ‘Goldshatz’, ‘瑞洋’, ‘Eden’, ‘Grüne Krone’, #873及びKBF×3-9の5品種2系統の一核期のやくをBA 1.0 mg/l, NAA 3.0 mg/lを添加したM・S培地上で14週間培養し得られたカルス(指数3)をコメ粒大(指数1.5)に分割してBA 1.0 mg/l, NAA 0.5

mg/l を添加した M・S 培地上で培養し、莖葉分化についての品種間の比較を行なった。

#### 実験 IV: カルスからの莖葉分化に及ぼす糖類の影響

‘瑞洋’の一核期のやくを BA 1.0 mg/l, NAA 3.0 mg/l を添加した M・S 培地上で 12 週間培養し、得られたアズキ粒大 (指数 2.0) からダイズ粒大 (指数 3.0) のカルスをコマ粒大 (指数 1.5) に分割して、BA 1.0 mg/l, NAA 0.5 mg/l を含み、糖の種類及び濃度を変えて添加した M・S 培地上で培養し、移植後の莖葉分化を調べた。なお、糖としてソルビトール、シュクロース、グルコース及びフラクトースの 4 種類を用いた。

#### 実験 V: カルスからの莖葉分化に及ぼす pH の影響

‘瑞洋’の一核期のやくを BA 1.0 mg/l, NAA 3.0 mg/l を添加した M・S 培地上で 14 週間培養して得られたダイズ粒大のカルスをコマ粒大に分割して pH を異にする M・S 培地上に移植し莖葉分化を調べた。pH は 3.5, 4.5, 5.5, 6.5, 7.5 及び 8.5 の 6 段階にし、生長調節物質として BA 1.0 mg/l, NAA 0.5 mg/l を添加した。

#### 実験 VI: カルスの液体培地浸漬処理と莖葉分化

‘MW 500’の一核期のやくを BA 1.0 mg/l, NAA 1.0 mg/l を添加した M・S 培地上で 14 週間培養し、得られたダイズ粒大のカルスを 4~5 等分して、これらのカルスを M・S 培地を基本とし、BA 0.5, 1.0 及び 5.0 mg/l の 3 段階と NAA 0.1 及び 1.0 mg/l の 2 段階を組み合わせた 6 種類の液体培地に 10 日間浸漬後、生長調節物質無添加の M・S 寒天培地に置床し、莖葉分化と液体培地浸漬処理との関係を調べた。

### 実験結果

#### 実験 I: 移植カルスからの莖葉分化に及ぼす

##### 分割前のカルスの大きさの影響

移植後のカルスの生長及びカルスからの莖葉分化率は Fig. 1 に示した。カルスの生長はいずれの区もほぼ同様に旺盛であった。また、莖葉分化率は分割前カルスの生長指数が 3.0 の区で最も高く、次いで分割前カルスの生長指数 2.0, 1.5 の順で良好であった。しかし、分割前カルスの生長指数が 4.0 の区では莖葉分化率が他の区に比べ極めて低く、莖葉分化のために用いるカルスとしては不適當であった。

#### 実験 II: 移植前カルスの性状と莖葉の分化

暗所で形成されたカルスは柔らかく水分に富み、明所で形成されたカルスはクロロフィルに富んだ堅いカルスであった。これらのカルスを BA 1.0 mg/l, NAA 0.5 mg/l 添加した分化用培地に移植した後のカルスの生長

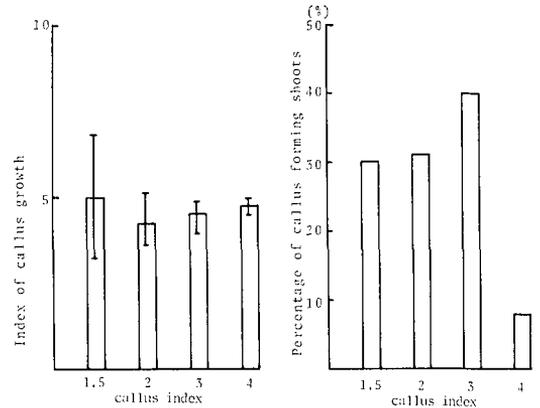


Fig. 1. Effect of the size of callus before dividing for transfer on shoot formation. (incubated 20 weeks at 25-27°C)

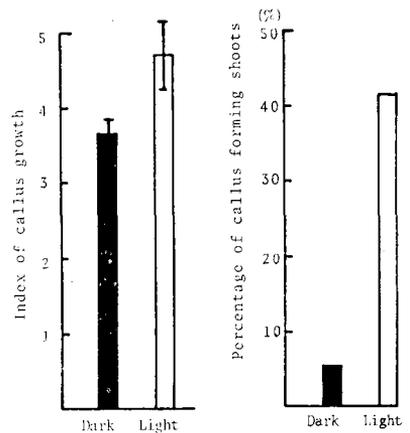


Fig. 2. Callus growth and shoot formation from callus obtained under the light or dark condition. (incubated 10 weeks at 25-27°C, cv: Zuiyo)

と莖葉分化率を Fig. 2 に示した。

カルスの生長はいずれの区も良好であったが、明所区の方が優れていた。またカルスの性状をみると明所区はカルスが濃緑色で、暗所区は黄緑色であった。このことから、暗所区で形成されたカルスも光の存在するところへ移された場合、充分クロロフィル形成能をもつことがわかる。次に、莖葉分化率は、暗所区の 5.4% に対して明所区では 42% で大きな差が認められた。

#### 実験 III: カルスからの莖葉分化についての品種間比較

Fig. 3, 4 に 5 品種・2 系統のカルスの生長及びカルス

からの茎葉分化率を示した。カルスの生長は各品種・系統とも良好で大きな差はみられなかった。また、カルスの性状をみると、いずれの品種もクロロフィルに富んだ生育旺盛なカルスであった。

次に、茎葉の分化をみると5品種、2系統のすべての試験区で茎葉の分化が認められ、20~40%の分化率を示した。これらの品種、系統間で最も茎葉分化率の高かったのは'Eden'で、次いで#873、'瑞洋'、'Grüne Krone'

の順であった。

**実験IV：カルスからの茎葉分化に及ぼす糖類の影響**  
 移植カルスの生長は Fig. 5, 6 のとおりで、シュクロース及びグルコースの区で良好でフラクトースの区でやや劣った。ソルビトールの区では1~4%の濃度でカルスの生長が認められたが、グルコース、シュクロース及びフラクトースの区と比較すると生長が極端に劣り、ソ

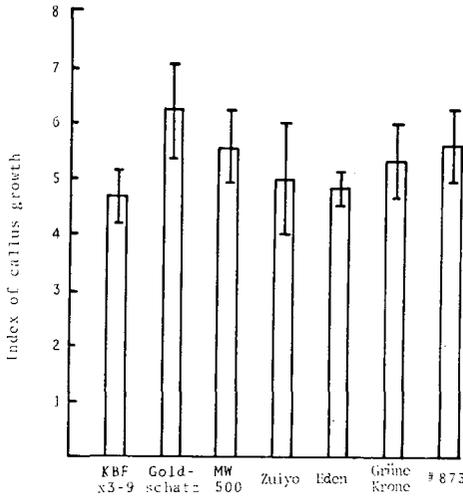


Fig. 3. Varietal difference in callus growth. (incubated 16 weeks at 25-27°C)

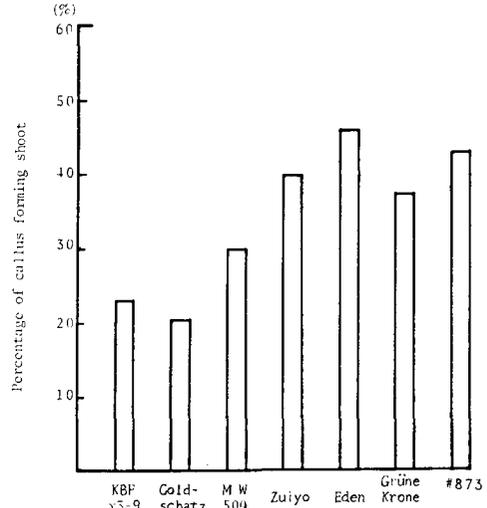


Fig. 4. Varietal difference in shoot formation from anther-derived callus. (incubated 16 weeks at 25-27°C)

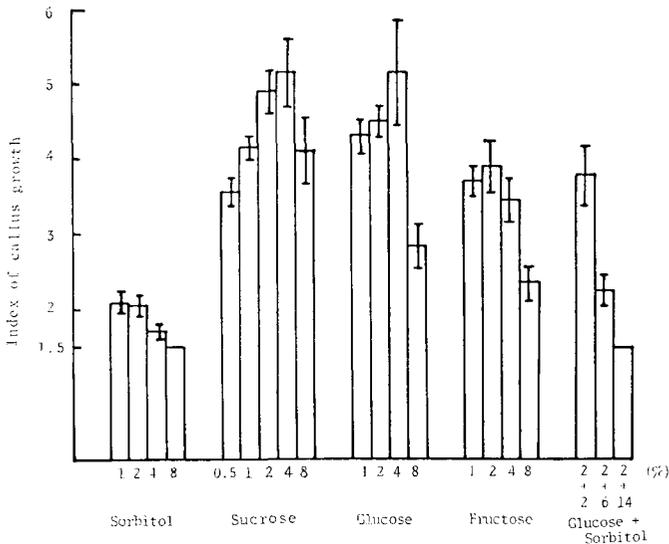


Fig. 5. Effect of sugar concentrations on growth of transferred callus. (incubated 12 weeks at 25-27°C)

ルビトール8%の区ではまったくカスの生長は認められなかった。また、糖濃度とカスの生長との関係をみると、シュクロース、グルコース、フラクトースとも糖濃度4%まではカスの生長が良好であるが、糖濃度が8%になると生長が劣り、この傾向はグルコース及びフラクトースで顕著であった。また、グルコースの区とグルコース+ソルビトールの区を比較すると、同一濃度で

比較した場合、いずれもグルコース+ソルビトールの区がグルコース単用の区よりも劣っていた。

次に、茎葉の分化をみると、Fig. 7 に示したように、グルコース2%の区が最も茎葉分化率が高く(40%)、次いでグルコース1%、フラクトース2%及び1%の順であった。また、各糖とも糖濃度が4%を超えると茎葉分化率が低下する傾向にあり、ソルビトール4%及び8%、

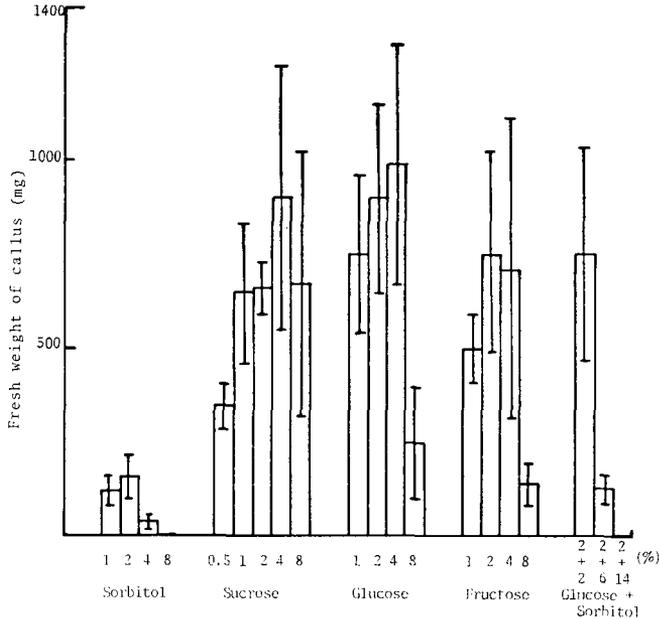


Fig. 6. Effect of sugar concentrations on growth of transferred callus. (incubated 12 weeks at 25-27°C)

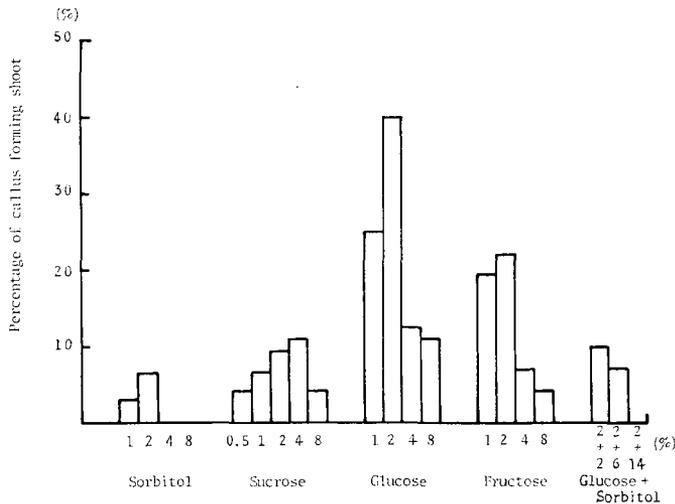


Fig. 7. Effect of sugar concentrations on shoot formation from transferred callus. (incubated 12 weeks at 25-27°C)

グルコース2%+ソルビトール14%の区では茎葉の分化は認められなかった。

**実験 V： カルスからの茎葉分化に及ぼす pH の影響**

カルスの生長は Fig. 8, 9 の通りで、いずれの pH 区でも良好で、pH 3.5 を除いてカルスの生長に大きな差は認められなかった。pH 3.5 の区は寒天が固まらなかったため移植カルスが培養中多数の小さなカルス塊に分離しつつ増殖するのが観察された。

次にカルスからの茎葉分化をみると Fig. 10 に示したように pH 3.5 の区を除き他のいずれの pH 区でも茎葉の分化が認められ、pH 5.5~8.5 の間で良好であった。pH 3.5 の区は茎葉の分化が認められなかったが、その理由としては pH の直接的な影響以外に寒天培地が固まらなかったためにカルスの生長が劣ったこととカルスが分離しバラバラになって生長したことによる間接的な影響が考えられた。

**実験 VI： カルスの液体培地浸漬処理と茎葉分化**

分割カルスを液体培地に浸漬している期間中、カルスの生長はほとんど認められず、また茎葉の分化も認められなかった。寒天培地へ移植後のカルスの生長及び茎葉分化率は Fig. 11 のとおりであった。カルスの生長はいずれの濃度区においても良好であったが、特に NAA 1.0 mg/l を添加した濃度区で BA の濃度に関係なく良好であった。また茎葉の分化は BA 濃度が NAA 濃度より高い区でより多く認められ本実験では NAA 1.0 mg/l は茎葉の分化を抑制する傾向にあった。本実験で得られた茎葉分化率は最も高い区で 16.6% で、カルスを分割後、

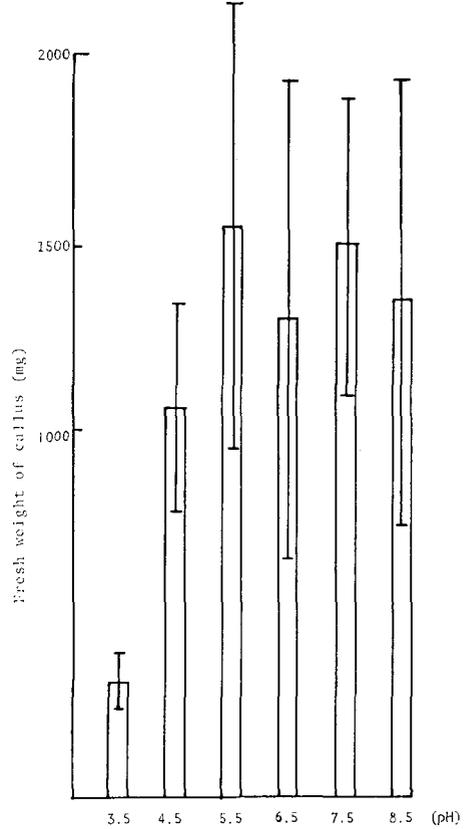


Fig. 9. Effect of pH on growth of transferred callus. (incubated 12 weeks at 25-27°C)

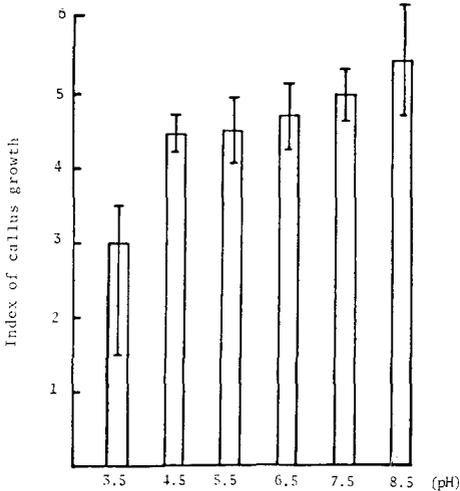


Fig. 8. Effect of pH on growth of transferred callus. (incubated 12 weeks at 25-27°C)

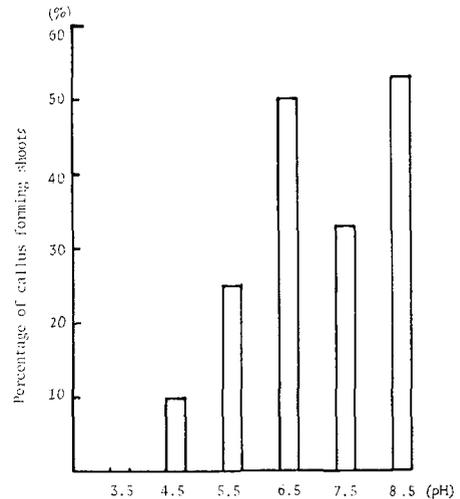


Fig. 10. Effect of pH on shoot formation from transferred callus. (incubated 12 weeks at 25-27°C)

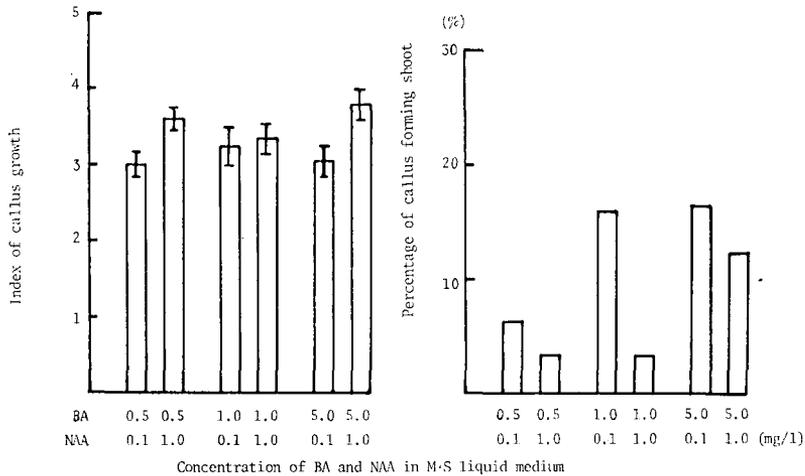


Fig. 11. Effect of immersion of callus in the liquid medium on callus growth and shoot formation. (incubated 8 weeks at 25–27°C after transferring from the liquid medium)

直接茎葉分化用の寒天培地に移植して得られた茎葉分化率より低い値であったが、茎葉の分化に要する期間は寒天培地に移植してからほぼ3週間で分化がほとんど終了し、直接寒天培地へ移植する方法に比べかなり短縮された。

### 考 察

やく培養によって半数体及び純系二倍体が作出される経路として、(1)花粉が直接不定胚を形成して将来半数体及び純系二倍体に生育する経路と、(2)やく内の花粉からカルスが誘導され、この誘導されたカルスから器官が分化し、やがて植物体に生育する経路の二つが知られているが、前報までに報告したようにアスパラガスの場合には現在のところ、後者の場合が知られているのみである(4, 7, 15, 18)。

現在まで、いろいろな器官や組織から誘導されたカルスを用いて、カルスからの器官分化に好適な条件をみつけるための努力が多くの作物で行なわれてきた(10, 11, 19, 20)が、やく由来カルスを用いて、カルスからの器官分化、特に茎葉分化に好適な条件をみつけるための広汎な実験はあまり行なわれておらず、従ってやく培養において、カルスを経由して半数体植物の育成に成功した植物(2, 6, 13, 14, 16)でも、カルスからの器官分化率は一般的に低く、遺伝研究や育種及び実際栽培の上から器官分化率の向上が望まれている。

前報において、アスパラガスのやく由来カルスを用い

て、カルスからの器官分化に及ぼす生長調節物質の影響について検討したが、本報では前報の成績を基礎にカルスからの茎葉分化に及ぼす生長調節物質以外の種々の要因(移植前のカルスの大きさ、糖類、pH、その他)の影響について検討を加えた。

まず、実験Iにおいて分割移植前のカルスの大きさと移植後のカルスからの茎葉分化との関係を見ると、移植後のカルスの生長指数が1.5~3.0のカルスで良好で、これらの大きさのカルスは細胞質に富んだ密な細胞から構成されていて、移植後のカルスの生長が盛んであった。このような生長の盛んなカルスは高い分裂能を有しており、多くの分裂部位をもつカルスほど茎葉の原基を誘導するために必要な条件を備えているものと考えられる。このことはカルスからの茎葉の分化が新たに増殖したカルスの表層部位で観察され、その周囲の細胞群は細胞質に富んだ密な細胞から構成されていることからわかる。これとは反対に、茎葉の分化が最も劣っていたのは分割移植前のカルスの生長指数が4.0(ダイズ粒の二倍の大きさ)のカルスで、このカルスを構成している細胞をみると、密な細胞は表層部に限られ内部は液胞化した大きな細胞から構成されていた。このようなカルスを分割して新たな培地に移植すると順調に増殖するが、これらのカルス細胞の染色体数をみると、60~80の染色体数をもつ異数性及び倍数性の細胞が多くみられたことから、カルス細胞の染色体数の不安定性がカルスからの茎葉分化にとって阻害的な要因の一つとなっているもの

と考えられる。

次に実験 II においては明所及び暗所で養成したカルスを用いて分割移植後、カルスからの茎葉の分化に違いがみられるかどうかを比較した結果、明らかに明所で養成したカルスの方が茎葉分化に対して有利であった。これは一つには分化用培地に移植後のカルスの生長及び形態にはそれほど違いはないが、クロロフィルの形成が暗所で養成したカルスの方が劣っていることと関係があるようで、クロロフィルの形成されない部位のカルスでは茎葉の分化がほとんどみられなかった。しかし、光が茎葉の分化に必須の条件ではなく、暗所で連続して培養したカルスからも茎葉が分化することが観察された。暗所で分化した茎葉はその大部分がクロロフィルの形成が悪く、明所に移しても緑化しにくく、これらを明所で順化させず、直接茎頂培養した場合、植物体にまで育成することは困難であった。

次に、茎葉分化に及ぼす糖の影響をみると、エネルギー源としての糖と、培地の浸透価に及ぼす糖の二つの影響が考えられた。エネルギー源としての糖としては、グルコース、シュクロースが有効でフラクトースはやや劣っており、ソルビトールは有効ではなかったが、カルスの増殖に利用された。ところでソルビトールは、やくからカルスを誘導する際にはまったく利用されなかったことから考えると(8)、カルスがソルビトールを利用できる代謝機構を獲得したものと思われる。一般に高浸透圧はカルスの増殖に対しては阻害的(1, 17)で、また茎葉の分化に対しても阻害的であった。しかし、カルスからの不定胚形成には高浸透圧が有効であり、形成された不定胚の発育には高浸透圧が阻害的であるという報告(12)があるので、今後培養中に糖濃度を変えて、茎葉の分化と浸透圧調節における糖の役割との関係を調べることが必要である。

また、pHの影響をみると、アスパラガスにおいてはpHの適応範囲は広く、寒天が固まる4.5以上で茎葉の分化がみられたが、培養終了時のpHを測定してみると、茎葉を分化したいずれの培地のpHも5~5.5付近に近づいており、反対に褐変したカルスを含む培地ではpHは7付近に近づいていた。また、同一培地上に、新鮮なカルスと褐変したカルスを有している場合、新鮮なカルスの周囲のpHは5付近で、褐変したカルスの周囲のpHは7付近であった。このことから、茎葉を分化しつつあるカルスを含む盛んに生長しているカルスを有する培地のpHは、培養開始時のpH値に関係なく培養期間中にpH5~5.5付近に近づく傾向が認められた。このよ

うにpHが培養期間中に一定の値に近づく傾向はハプロハプス(5)やマリーゴールド(11)の腫瘍組織を用いた培養でも観察されている。

この他、5品種・2系統を用いて比較した結果では、すべての品種、系統で茎葉の分化が可能であることが認められた。また、移植前のカルスをBA及びNAAを含む液体培地に10日間浸漬処理することによって、直接寒天培地に移植する場合より茎葉の分化を早め得ることも明らかとなった。

なお培養温度については、光の有無によって最適温度が変わるという報告(3)もあるので、今後、光と温度との関係についてはさらに詳しく検討することが必要である。

やく培養においては、花粉起源のカルスを獲得し、そのカルスから植物体を育成することが重要であり、また、実際栽培及び育種上必要なすべての品種から花粉起源の植物体が得られることが望まれる。本実験において、花粉起源の可能性の高いカルスを用いて実験を行ない茎葉の分化がみられたこと、また、供試品種すべてで茎葉の分化がみられたことなどから今後花粉起源の植物体を遺伝・育種及び栽培の方面で利用することが可能であろうと考えられる。

## 摘 要

アスパラガスのやくから誘導されたカルスを用いて、カルスからの茎葉分化に及ぼす糖類及びpHの影響、カルスからの茎葉分化における品種間差、移植前カルスの性状と茎葉分化との関係などについて検討した。実験は以下の6項目について行なった。基本培地はMurashige-Skoogの培地を用い、培養はすべて4,000 lx、16時間照明8時間暗黒下で行なった。結果は次のとおりである。

(1) 分割前のカルスの大きさと茎葉の分化：分割前のカルスを4段階(生長指数にして1.5, 2, 3及び4の大きさのカルス)に分けこれらのカルスを指数1.0(コメ粒大の約1/2)に分割して茎葉分化と移植前カルスの大きさとの関係を調べた。その結果、生長指数1.5~3.0のカルスを移植した区で茎葉分化率が良好で、生長指数4.0のカルスを移植した区ではほとんど茎葉の分化が認められなかった。

(2) 移植前カルスの性状と茎葉の分化：移植前、明所及び暗所で養成したカルスをBA 1.0 mg/l, NAA 0.5 mg/l添加した培地に移植し明所で培養した。茎葉の分化は、移植前明所で養成したカルスのほうが良好で、暗

所で養成したカルスは明所に比べ劣っていた。

(3) カルスからの茎葉分化についての品種間比較: 'MW 500', 'Goldshatz', '瑞洋', 'Eden', 'Grüne Krone' #873 及び KBF×3-9 の5品種2系統のやく由来カルスを BA 1.0 mg/l, NAA 0.5 mg/l 添加した培地上で培養した。茎葉の分化はすべての品種・系統で認められた。茎葉分化率が良好であったのは 'Eden', #873, '瑞洋', 'Grüne Krone' で、これらの茎葉を分化したカルスはクロロフィルに富んだ生育旺盛なち密なカルスであった。

(4) カルスからの茎葉分化に及ぼす糖類の影響: シュクロース, グルコース, フラクトース及びソルビトールを用いて、これらの糖濃度を変えてカルスからの茎葉分化に及ぼす糖の種類及び濃度の影響を調べた。茎葉分化にはグルコース1~2%が好適であった。ソルビトールはカルスの生長及び茎葉の分化には有効でなかった。

(5) カルスからの茎葉分化に及ぼす pH の影響: BA 1.0 mg/l, NAA 0.5 mg/l を添加した M・S 培地の pH を変えてカルスからの茎葉分化に及ぼす pH の影響をみた。茎葉の分化は pH 4.5~8.5 の間で認められ、pH 5.5 以上で良好であった。pH 3.5 の区では培地が固まらず、そのためカルスが分離しながら生長し、大きなカルス塊にはならなかった。

(6) カルスの液体培地浸漬処理と茎葉分化: BA 及び NAA を含む液体培地に 10 日間浸漬処理したカルスを寒天培地へ移植すると、直接寒天培地へ移植する場合より茎葉の分化が早まった。茎葉の分化は BA 濃度が NAA 濃度より高い区で良好であったが、最高で 16.6% であった。

#### 引用文献

1. AMMIRATO, P. V. and F. C. STEWARD: Some effects of environment on the development of embryos from cultured free cells, *Bot. Mag.*, **132**: 149-158. 1971
2. CLAPHAN, D.: In vitro development of callus from the pollen of *Loium* and *Hordeum*, *Z. Pflanzenzüchtg.*, **69**: 142-155. 1971
3. de CAPITE, L.: Action of light and temperature on growth of plant tissue cultures in vitro, *Amer. J. Bot.*, **42**: 869-873. 1955
4. DORÉ, C.: Androgenese in vitro par culture d'antheres d'*Asperagus officinalis*. Etat actuel des recherches. Eucarpia 4<sup>e</sup> reunion sur la selection de l'*Asperge*, *Versailles*, 173-181. 1973
5. ERICKSON, T.: Studies on the growth requirements and growth measurements of cell cultures of *Haplopappus gracilis*, *Physiologia Plant.*, **19**: 900-910. 1965
6. GRESSHOFF, P. M. and C. H. DOY, Development and differentiation of haploid *Lycopersicon esculentum* (tomato), *Planta*, **107**: 161-170. 1972
7. 稲垣 昇・原田 隆・八鍬利郎: 園芸作物のやく培養に関する研究 (第3報). アスパラガスのやくからのカルス誘導について (2), *北大農邦文紀*, **11**: 386-394. 1979
8. 稲垣 昇・原田 隆・八鍬利郎: 園芸作物のやく培養に関する研究 (第2報). アスパラガスのやくからのカルス誘導について (1), *園学雑*, **49**: 71-78. 1980
9. 稲垣 昇・原田 隆・八鍬利郎: 園芸作物のやく培養に関する研究 (第4報). カルスからの器官分化に及ぼす生長調節物質の影響, *園学雑*, (投稿中)
10. LEE, T. T. and F. SKOOG: Effects of substituted phenols on bud formation and growth of tobacco tissue cultures, *Physiol. Plant.*, **18**: 386-402. 1965
11. NUIR, W. H., A. C. HILDEBRANDT and A. J. RILER,: The preparation isolation and growth in culture of single cells from higher plants, *Amer. J. Bot.*, **45**: 589-597. 1958
12. NARAYANASWAMI, S. and NORSTOG, K.: Plant embryo culture, *Bot. Rev.*, **30**: 587-628. 1964
13. NIIZEKI, H. and K. OONO: Induction of haploid rice plant from anther culture, *Proc. Japan. Acad.* **44**: 554-557. 1968
14. 新関宏夫・大野青春: イネの葯培養による半数体植物の育成. 育雑, **18** (別冊): 57-58. 1968.
15. RELETTIER, G., C. RAQUIN and G. SIMON: La culture in vitro d'antheres d'*asperge* (*Asparagus officinalis* L.), *C. R. Acad. Sci., Paris*, **274** (6): 848-851. 1972
16. SANGWAN, R. S. and B. NORRELL: Induction of plants from pollen grains of *petunia* cultured in vitro, *Nature, Lond.*, **257**: 222-223. 1975
17. SCHENK, R. V. and A. C. HILDEBRANDT: Medium and techniques for induction and growth of monocotyledonous and dicotyledonous plant cell cultures, *Can. J. Bot.*, **50**: 199-204. 1972
18. 八鍬利郎・原田 隆・稲垣 昇・志賀義彦: 園芸作物のやく培養に関する研究 (第1報). アスパラガスのやく培養におけるカルスの誘導と器官分化. *園学雑*, **41**: 272-280. 1972
19. 八鍬利郎・原田 隆・半沢光子: 園芸作物の栄養繁

- 殖に関する研究（第2報）。トマト組織片からのカルス及び器官の形成におよぼす生長調節物質の影響，北大農邦文紀，9：25-46. 1973
20. 山田康之：培養細胞，組織における脱分化・再分化の解析，植物の化学調節，6(2)：138-149. 1970

### Summary

The following six experiments were carried out to investigate the optimal conditions for shoot formation from anther-derived callus of *Asparagus officinalis* L.

The results obtained are summarized as follows.

- 1) The relationship between the size of callus clumps prior to the dividing for transfer to shoot forming medium and shoot formation. Among 4 different sizes of callus prepared before dividing, the percentage of callus forming shoots was highest in rice grain-sized callus, and the lowest percentage was seen in sizes twice as large as soybean-sized callus.
- 2) The relationship between properties of callus before transferring and shoot formation. Callus cultured under light or dark conditions were transferred to the shoot-forming medium containing 0.5 mg/ℓ NAA with 1.0 mg/ℓ BA. Callus cultured under the light conditions was superior to those cultured under dark conditions in shoot formation.
- 3) The varietal difference in shoot formation from callus. Five cultivars (MW 500, Goldschatz, Zuiyo, Eden, and Grüne Krone) and two strains (#873 and KBF×3-9) were prepared to investigate

varietal difference in shoot formation from callus. Shoot formation was observed in all these cultivars and strains. The percentage of callus forming shoots was good in Eden, Zuiyo, Grune Krone and #873.

4) The effect of sugar concentrations on the shoot formation from callus. Sucrose, Glucose, Fructose and Sorbitol were used in this experiment. It was found that one to two percent of Glucose was suitable for shoot formation. Sorbitol was not effective in both callus growth and shoot formation.

5) The effect of pH on shoot formation from callus. Shoot formation was noted on shoot-forming medium adjusted to pH 4.5 to pH 8.5. The shoot-forming medium adjusted to pH 5.5 to 8.5 enhanced shoot formation.

6) The effect of immersion of callus in MS liquid medium on shoot formation. Soybean-sized callus induced from anthers was divided into 4 to 5 pieces equal in size. These calluses were immersed in MS liquid medium containing 0.1 to 1.0 mg/ℓ NAA combined with 0.5 to 5.0 mg/ℓ BA for 10 days, and thereafter the callus were transferred to MS agar medium without growth regulators. During the period of immersion of callus in the liquid medium, neither callus growth nor shoot formation was observed. Subsequently shoot formation was observed after transferring to MS agar medium. A high ratio of cytokinin relative to auxin in the MS liquid medium favored shoot formation.

## 正 誤 表

北海道大学農学部邦文紀要第12巻第4号の目次2頁目の第7論文の著者名“稲期 昇”“八垣利郎”を“稲垣 昇”“八鍬利郎”と訂正します。